



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Neurologia

Creatinina, um biomarcador de prognóstico e preditor da função respiratória, na Esclerose Lateral Amiotrófica

João Afonso Morgadinho Martins

Junho'2019



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Neurologia

Creatinina, um biomarcador de prognóstico e preditor da função respiratória, na Esclerose Lateral Amiotrófica

João Afonso Morgadinho Martins

Orientado por:

Professor Doutor Mamede De Carvalho

Junho'2019

Resumo

A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) é uma doença neurodegenerativa fatal. Existem vários preditores clínicos de prognóstico, como a idade, a região afetada no início da doença, a duração da doença aquando do diagnóstico, a capacidade funcional e a função respiratória. A creatinina sérica está fortemente relacionada com a massa muscular e tem sido descrita como um fator de prognóstico laboratorial indicador da sobrevida. Este estudo objetiva analisar a creatinina como preditor da função respiratória (capacidade vital forçada, FVC), da progressão clínica e da morte.

Realizou-se uma análise retrospectiva dos doentes com ELA seguidos na Unidade de Doenças Neuromusculares do Hospital de Santa Maria-CHULN. Selecionaram-se doentes com um registo do valor de creatinina sérica aquando da consulta inicial, com dados disponíveis da função respiratória (FVC) e da capacidade funcional (ALSFRS-R) no momento da consulta e no seguimento. Pretendeu-se investigar a creatinina como fator independente de prognóstico para a função respiratória (FVC), o declínio funcional (ALSFRS-R) e morte. A análise foi realizada com regressões múltiplas e a regressão de Cox foi aplicada para o estudo da sobrevida.

Foram incluídos 233 doentes. O valor da creatinina tem correlação com o ALSFRS-R ($p=0,014$) na primeira consulta. O valor inicial da creatinina é preditor independente do declínio funcional ($p<0,001$). A creatinina não tem valor preditivo da função respiratória ou da morte. O fenótipo bulbar (HR 1,56; $p=0,029$) e a idade no momento do diagnóstico (HR 16,41; $p<0,0001$) estão associados a uma menor sobrevida.

A creatinina tem valor preditor da capacidade funcional, mas não tem valor preditor da função respiratória e da morte, indicando que estas não dependem apenas da massa muscular do doente. No entanto, os resultados obtidos permitem sugerir que a creatinina é um biomarcador promissor da mobilidade e independência funcional dos doentes.

Palavras-chave: Esclerose lateral amiotrófica; capacidade funcional; capacidade vital forçada; creatinina; prognóstico.

“O Trabalho Final exprime a opinião do autor e não da FML.”

Abstract

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a fatal neurodegenerative disease. Several prognostic factors have been established in ALS, in particular age and affected region at onset, disease duration at diagnosis, and functional and respiratory capacity. Creatinine is a strong indicator of muscle mass and has been described as an independent prognostic factor for functional decline and death. We aim to determine if serum creatinine is a prognostic factor for respiratory decline, in addition to functional decline and mortality.

The study involved a retrospective review of clinical data from patients followed at the Unidade de Doenças Neuromusculares do Hospital de Santa Maria-CHULN. We included patients with creatinine laboratory evaluation at first assessment, with functional (ALSFRS-R) and respiratory evaluation (forced vital capacity, FVC), and follow-up evaluations. Only subjects whose first serum creatinine laboratorial data were separated by less than 6 months from a first pulmonary function assessments (FVC) and a first functional assessment (ALSFR-R) were selected. For assessing the prognostic value we used multiple regressions analysis and Cox proportional hazard regression for survival curves.

A total of 233 subjects were included. At baseline, creatinine is positively correlated with ALSFRS-R ($p=0.014$). Longitudinal regression indicated that baseline creatinine predicts a faster ALSFRS-R decline ($p<0.001$). However, creatinine did not predict respiratory function outcome or mortality rate. Bulbar-onset (HR 1.56, $p=0.029$) and age at diagnosis (HR 16.41; $p<0.0001$) were independent predictors of survival.

Lower creatinine values at baseline predicted a lower functional capacity (ALSFRS-R), at entry and throughout disease progression. Our results do not support initial creatinine values as predictor of respiratory function or survival. These results support creatinine as a prognostic biomarker for functional outcome. Further studies are needed.

Keywords: Amyotrophic lateral sclerosis; functional capacity; forced vital capacity; creatinine; prognosis.

“This Paper express the author’s opinion, not FML’s.”

Índice

Introdução	5
Material E Métodos.....	12
Resultados	14
Discussão	17
Agradecimentos.....	20
Bibliografia	21
Quadros E Figuras	28

Introdução

A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) é uma doença neurodegenerativa, progressiva e fatal, que afeta o primeiro (UMN) e segundo neurónio motor (LMN) do Sistema Nervoso Central.[1,2]

A ELA tem uma incidência global de 2-3/100.000 habitantes/ano e uma prevalência de 6-7/100.000 habitantes na Europa, com uma esperança média de vida de 30 meses após o início dos primeiros sintomas. O sexo masculino tem maior risco, rácio homem/mulher de 1,5:1.[1,3,4] Estima-se que em Portugal possam existir cerca de 600 doentes. [5] A idade média dos primeiros sintomas situa-se entre os 50-65 anos, sendo que os doentes com história familiar tendem a ter um início mais precoce. [3]

A ELA pode ser dividida entre uma variante esporádica (ELA_{esp}), que contempla cerca de 90-95% dos casos (sem história familiar), e uma variante com história familiar (ELA_{fam}), que representa os restantes 5-10%, estando associada, em regra, a uma transmissão autossómica dominante.[1,2,6]

A etiologia é desconhecida, todavia têm surgido várias evidências. Uma hipótese sustenta que o processo responsável pela degeneração dos neurónios motores resulta de um estado inflamatório, potenciado pelas células da glia. Outro conceito defende que os mecanismos moleculares de lesão, como a excitotoxicidade induzida pelo glutamato, as disfunções mitocondriais, as alterações do transporte axonal e as agressões provocadas por radicais livres de oxigénio, têm na sua génese a toxidade de aglomerados intracitoplasmáticos, muitas vezes associados a mutações, em particular mutações do gene que codifica a enzima antioxidante cobre-zinco superóxido dismutase-1 (SOD1). [1,6,7] Existem estudos que sugerem a existência de uma possível influência de vários fatores ambientais precipitantes, como a exposição ao tabaco, a metais pesados, a herbicidas, a solventes e outros tóxicos.[1,8]

A mutação no C9orf72 (*chromosome 9 open reading frame 72*), caracterizada por uma repetição de uma expansão hexanucleotídica, está presente em cerca 20% dos doentes com ELA_{fam} e em 5% na ELA_{esp}. As mutações do SOD1 estão presentes em cerca de 15% na ELA_{fam} e em 1%

na ELA_{esp}. Atualmente, pelo menos 30 genes foram identificados como associados à ELA_{fam} e à ELA_{esp}. [6]

A manifestação e a progressão dos sintomas na ELA são heterogêneos. Variando consoante a localização topográfica predominante da perda neuronal, do tipo neurónio motor mais afetado (UMN vs LMN), da idade e de outros fatores. [1,2,7]

A perda de UMN (córtex motor) expressa-se por espasticidade, hiperreflexia, clónus, e pela presença dos sinais de Babinsky e de Hoffman. A perda de LMN (núcleos motores do tronco cerebral e do corno anterior da medula espinhal) expressa-se por fraqueza e atrofia muscular, hiporeflexia e fasciculações. [1,2]

O fenótipo de apresentação medular, contempla cerca 70% dos doentes com ELA. Caracteriza-se por uma paresia, que afeta inicialmente os membros superiores e/ou inferiores, evoluindo de uma forma insidiosa, geralmente assimétrica. [1,2,6,9] O fenótipo bulbar (25%) caracteriza-se pelo surgimento de disartria e disfagia de evolução progressiva, para além de manifestações decorrentes do envolvimento de músculos cervicais. Sintomas de labilidade emocional podem estar presentes, com incapacidade de suprimir o riso ou choro. Com a progressão da doença, os membros tendem a ficar afetados. [1,2,9] Os restantes 5% dos doentes apresentam os seguintes fenótipos: o fenótipo respiratório, caracterizado por dispneia progressiva como primeiro sintoma, associado a um envolvimento inicial do diafragma. O fenótipo axial caracteriza-se pelo comprometimento da musculatura para-vertebral. No fenótipo generalizado não é possível definir uma região inicial de apresentação, estando associado a uma sintomatologia difusa, tipicamente assimétrica e rapidamente progressiva. [1,2,9]

Para além dos sintomas motores, entre 30-50% dos doentes têm expressão subclínica de alterações cognitivas e do comportamento, tal como detetado por testes neuropsicológicos. Estas alterações podem anteceder vários anos os primeiros sintomas motores. A demência fronto-temporal (FTD) está presente em cerca de 10% dos doentes com ELA, estando associada a menor sobrevida. [1,7,10]

O diagnóstico de ELA é clínico, através da história clínica e de um exame neurológico minucioso, que evidencie o envolvimento conjunto do UMN e do LMN. A avaliação clínica deve ser complementada pela electromiografia. Os exames de imagem são relevantes no diagnóstico

diferencial. Os critérios revistos *El Escorial* e as recomendações de *Awaji*, assentes em dados clínicos e eletrofisiológicos, categorizam os doentes em níveis de certeza diagnóstica: doença definitiva, provável e possível. [1,2,6,11] O intervalo temporal, entre a confirmação do diagnóstico e o início dos sintomas, é em média entre 12-18 meses.[1]

Os doentes com ELA vivem em média entre 3 a 5 anos, após o início dos sintomas. Apenas 20% dos doentes permanecem vivos após 5 anos e 10% após 10 anos.[1] A maioria dos doentes com ELA morre por complicações respiratórias, nomeadamente, por insuficiência respiratória, com ou sem pneumonia. Necessitando de ventilação invasiva nas fases mais avançadas da doença.[1,12,13]

Atualmente, não existem terapêuticas farmacológicas modificadoras que aumentem a sobrevida, à exceção do riluzol (diminui o efeito neurotóxico do glutamato). No entanto a ventilação não-invasiva tem um papel importante na melhoria de qualidade de vida e sobrevida dos doentes. O controlo sintomático e a otimização da qualidade de vida, por parte de uma equipa multidisciplinar estão associados, de igual forma, ao aumento da sobrevida e qualidade de vida dos doentes.[2,11]

Para um melhor seguimento dos doentes, e na perspetiva da melhoria de qualidade dos estudos clínicos, é importante conhecer os fatores relacionados com o prognóstico. Ao longo dos últimos anos, vários fatores de prognóstico têm sido identificados.[1,14-16] A idade de diagnóstico é um relevante fator independente de prognóstico, quanto maior a idade no diagnóstico, menor será a sobrevida. Outro fator é a duração da doença até ao momento do diagnóstico, quanto maior for o intervalo temporal entre o início dos sintomas e o diagnóstico clínico, maior será a sobrevida, uma vez que estes doentes têm uma progressão mais lenta da doença. Os fenótipos bulbares e respiratórios estão associados a um pior prognóstico.[1,16,18]. Como referido anteriormente, doentes com alterações cognitivas e do comportamento têm um pior pronóstico [1,7,10]. O estado nutricional dos doentes, expresso pelo índice de massa corporal (IMC) é considerado mais um fator de prognóstico independente, quanto menor o IMC aquando do diagnóstico, menor será a sobrevida.[19-22]. O género não é um fator independente no prognóstico. [16-18].

Devido à sua importância nesta doença, a avaliação da função respiratória deve ser realizada na altura da primeira consulta e repetida aproximadamente a cada 3-6 meses, ao longo do decurso da doença, de acordo com o declínio funcional.[11] A avaliação é efetuada, em regra,

através de provas de função respiratória, nomeadamente por espirometria, e quantificada sob a forma de capacidade vital forçada (FVC). Na verdade, o FVC é um fator independente de prognóstico.[17,23-25] Um FVC inferior a 50% do valor predito está associado a uma curta sobrevida. [26-28]

A Escala Funcional da ELA Revista (ALSFRS-R) é um instrumento universal de avaliação da capacidade funcional. A escala é formada por doze itens que avaliam a capacidade funcional muscular (bulbares e medulares). As últimas três perguntas avaliam o envolvimento respiratório, designando-se por ALSFRS-R *respiratory*. Quanto menor for a pontuação global obtida aquando do diagnóstico, e quanto maior o declínio desta escala ao longo da doença, pior será o prognóstico.[17,24,29,30]

A eletrofisiologia pode dar algumas indicações. Está descrito que a severidade da redução generalizada das amplitudes das respostas motoras pode indicar mais acelerada progressão da doença. [24,31,32]

Nos últimos anos, têm sido realizados inúmeros estudos para tentar alcançar uma melhor compreensão dos fatores de prognóstico. As limitações destes estudos resultam da complexidade e da heterogeneidade dos fatores envolvidos na progressão da doença, não esquecendo a influência dos diferentes fenótipos. [18,33]

Um biomarcador é uma característica que pode ser objetivamente medida e avaliada como um indicador de um processo fisiológico, patológico, ou até como indicador de uma resposta biológica a uma intervenção terapêutica. [18] Os biomarcadores de prognóstico correspondem a uma característica, aquando do diagnóstico ou do aparecimento dos primeiros sintomas, que nos permite informar a respeito da evolução natural da doença. Os biomarcadores de prognóstico podem ser marcadores genéticos, estudos de imagem e laboratoriais. Pela definição de biomarcador, as características avaliadas pela demografia e pela clínica, referidas anteriormente, também podem ser consideradas como biomarcadores de pronóstico [18,33] Por exemplo, a repetição da expansão hexanucleotídica do C9orf72 está associada a um pior prognóstico, [10,34] e os indivíduos com a mutação SOD1^{D90A} apresentam uma progressão da doença mais indolente, relativamente aos indivíduos com SOD1^{A4V}. [18]

Biomarcadores obtidos através de estudos de imagem têm vindo a ser desenvolvidos. As imagens em T1 da ressonância magnética (RM) têm permitido avaliar a atrofia do córtex motor primário e das restantes regiões do lobo frontal, por outro lado a espectroscopia por RM permite a quantificação de vários metabolitos indicadores de lesão neural, como o N-acetilaspártato (NAA). Vários estudos têm demonstrado a relação entre a quantidade de NAA, no córtex motor primário com a progressão da doença.[33,35]

Atualmente, existem vários biomarcadores laboratoriais de prognóstico, obtidos através de amostras de líquido e sangue. Contudo, muitos destes biomarcadores carecem ainda de estudos que os validem quanto à sua reprodutibilidade, de modo a serem reconhecidos e utilizados universalmente. Na literatura, é possível encontrar várias investigações, cujos resultados diferem entre si, para um mesmo biomarcador analisado.[33,36,37] São vários os exemplos de biomarcadores laboratoriais de prognóstico na ELA:

i. Os neurofilamentos são proteínas estruturais específicas do citoesqueleto dos neurónios. Os neurofilamentos podem ser divididos entre neurofilamentos de cadeias leves (NFL) e neurofilamentos de cadeias pesadas fosforiladas (pNH). Os neurofilamentos são libertados, aquando de uma lesão celular. A presença de níveis elevados de NFL e de pNH, no líquido ou no sangue, está associado a um pior prognóstico. [18,38,39]

ii. Valores elevados de proteína C reativa (PCR) da admissão estão relacionados com um menor valor do ALSFRS-R e da sobrevida, possivelmente como resultado de um estado pró-inflamatório.[40,41]

iii. Níveis elevados de marcadores inflamatórios, como a *club-cell secretory protein* [42] ou a interleucina (IL)-6 [43], associam-se a um pior prognóstico respiratório.

iv. O ácido úrico detém propriedades antioxidantes. Uma vez que o *stress* oxidativo participa na etiopatogénese da ELA, vários estudos indicam que, quanto maior a concentração sérica de ácido úrico, mais lenta será a progressão do curso da doença. [44-46]

v. A albumina e o perfil lipídico (colesterol total, LDL/HDL) relacionam-se com o estado nutricional dos doentes. Níveis elevados de ambos foram identificados com fatores preditores positivos da sobrevida.[36,47,48]

vi. Elevadas concentrações séricas de ferritina estão associadas a um pior prognóstico. O mecanismo é ainda desconhecido, mas sustenta-se que esteja relacionado com o *stress* celular. [36,49,50]

vii. A enzima creatina quinase (CK) catalisa reações reversíveis de fosforilação da creatina em fosfocreatina (PCr). A isoenzima presente no musculo esquelético designa-se por CK-MM. Quanto maior for a massa muscular de um individuo, maior será reserva de CK-MM passível de ser libertada. Valores aumentados de CK-MM, na admissão, estão associados a uma maior sobrevida. Atualmente, esta enzima é considerada um biomarcador independente de prognóstico, associado à progressão da doença. [51-54]

viii. Por último, no âmbito dos biomarcadores laboratoriais, a creatinina plasmática é mais um biomarcador de prognóstico da ELA que tem sido investigado. A creatinina é um metabolito resultante da degradação da creatina. No rim, a enzima arginina:glicina amidinotransferase transfere um grupo amidina, do aminoácido arginina para a glicina. A glicina é convertida em ácido guanidoacético (glicociamina). No fígado, a guanidinoacetato metiltransferase transfere um grupo metilo da metionina para a glicociamina, transformando a glicociamina em creatina. A creatina é depois transportada pelo sangue para os tecidos, sobretudo para o cérebro, rim e músculo. [55] Como referido anteriormente, a creatina e o ATP são o substrato para a formação de PCr, por parte da CK. A PCr é uma molécula com grande reserva energética, cuja utilização e lise origina, mais uma vez ATP e creatina. A creatinina é um anidro que resulta de uma reação não enzimática de desidratação da creatina. A PCr também pode originar diretamente a creatinina por desidratação. [55-57] A creatinina forma-se a uma taxa relativamente constante no músculo. Uma vez que a reação de formação é irreversível, a creatinémia está relacionada diretamente com a massa muscular, variando apenas consoante a idade e o género. A creatinina é depois eliminada por filtração glomerular, não sendo reabsorvida ou secretada a nível tubular. Desde que a taxa de filtração glomerular não se altere significativamente, a creatinina plasmática é um bom indicador da massa muscular. [55-57] O doseamento de creatinina é efetuado pelo método colorimétrico de Jaffé. A creatinina, em meio alcalino, reage com o ácido pícrico, originando um composto corado, que depois é quantificado por espectrofotometria (520nm).[58-59] Nos homens, o intervalo de referência para a creatinina é entre 0,6-1,2 mg/dL; nas mulheres é entre 0,5-0,9 mg/dL. [60] A creatinina plasmática foi identificada como um marcador independente de prognóstico e preditivo

da sobrevida, aquando do início da apresentação dos sintomas. [30,38,45,47,61–65] Uma das publicações com maior impacto foi a publicada por Eijk et al., (2018), reportando um estudo retrospectivo de 1241 doentes, com base em informação recolhida através de várias bases de dados. Uma redução do nível deste marcador associa-se a maior mortalidade e mais rápido declínio da força muscular e do ALSFRS-R. Inferiram, igualmente, que a creatinina permite monitorizar a progressão da doença, uma vez que esta apresenta uma taxa de declínio contante, ao longo do tempo.[30]

Atualmente, os estudos que procuram relacionar a creatinina com a função respiratória são ainda escassos. Um estudo, por Chiò et al., (2014), indica uma correlação entre os níveis deste biomarcador e o *score* da avaliação clínica respiratória pelo ALSFRS-R, e com o valor de FVC, sem estabelecer um valor de prognóstico. [47] Assim, de modo a contribuir para o conhecimento científico acerca dos biomarcadores na ELA, objetivamos estudar o valor da creatinina plasmática como preditor da função respiratória (FVC), assim como do prognóstico funcional e da sobrevida, na ELA.

Material E Métodos

Os dados foram obtidos pela análise da base de dados dos doentes de ELA seguidos na consulta, integrados no Projeto Europeu *OnWebDuals*. Posterior consulta dos processos permitiu complementar a informação, quando necessário.

Foi seguido o desenho de um estudo retrospectivo. Foram incluídos todos os doentes com seguimento na consulta, respeitando os seguintes critérios de inclusão: doentes com o diagnóstico de ELA, respeitando os critérios revistos de *El Escorial*; com registo do ALSFRS-R e do valor de FVC na consulta inicial e de seguimento; com determinação do valor da creatinina sérica em data próxima da primeira consulta (intervalo < 6 meses). Foram excluídos todos os doentes com outra doença neurológica, sem acompanhamento regular, com sinais clínicos de falência respiratória e com sinais laboratoriais de insuficiência renal (elevação da ureia e/ou da creatinémia). Os valores de creatinina foram registados em mg/dL.

A avaliação da função respiratória, através de espirometria, foi registada sob a forma de percentagem da capacidade vital forçada obtida em relação ao valor predito (%FVC). Para a avaliação da capacidade funcional registou-se o valor do ALSFRS-R (0-48) e do ALSFRS-R *respiratory subscore* (0-12). Para o %FVC e o ALSFRS-R foram recolhidos dados da primeira avaliação e de até quatro avaliações subsequentes (com intervalo de 3-4 meses), no decurso da doença.

Igualmente registaram-se vários dados demográficos e clínicos, como o género, a idade no diagnóstico, a data da primeira consulta/admissão, a duração dos sintomas até ao diagnóstico (meses), o fenótipo (dividido entre bulbar e não-bulbar), a presença de demência frontotemporal, o índice de massa corporal na admissão (IMC_{adm}, kg/m²), e data de morte.

O objetivo do estudo consistiu em avaliar o valor da creatinina sérica na admissão como preditor da função respiratória (FVC) e biomarcador de prognóstico funcional e da morte, em doentes com ELA.

Em primeiro lugar, procurou-se aferir a relação da creatinina e outras variáveis demográficas e clínicas, com a função respiratória e a capacidade funcional. Quer na primeira consulta (t_1), quer no decurso da doença. De acordo com os dados conhecidos, consideramos a

idade do diagnóstico, a duração dos sintomas até ao diagnóstico, o género, o IMC_{adm} , a presença de FTD e o fenótipo bulbar como variáveis preditores independentes do prognóstico. O %FVC, o ALSFRS-R global e o ALSFRS-R *respiratory subscore* foram considerados como variáveis dependentes.

O estudo da relação entre as variáveis independentes e dependentes foi efetuada através de regressões múltiplas. Estabeleceu-se um nível de significância, $\alpha=0,05$. A correção de Bonferroni para comparações múltiplas foi aplicada ($p<0,05/n$). Com recurso à técnica de *Median-Split*, comparou-se a evolução das várias variáveis dependentes, ao longo do tempo, entre um grupo de doentes com valores de creatinina superiores à mediana, com um grupo de doentes com valores inferiores à mediana. O estudo da interação género-creatinina foi efetuado através de *F-tests*, com base nos coeficientes obtidos nas várias regressões múltiplas, tendo-se codificado o sexo masculino como “0” e o sexo feminino como “1”.

Por último, o estudo da mortalidade, tendo como base a influência das várias variáveis independentes (preditores de sobrevida), entre as quais a creatinina, foi efetuado através da regressão de risco proporcional de Cox. Com recurso à técnica de *Median-Split*, comparou-se a sobrevivência de um grupo de doentes com valores de creatinina superiores à mediana, com um grupo de doentes com valores inferiores à mediana. Um ponto de corte de 60 meses após o diagnóstico foi estabelecido para o estudo da mortalidade. Os doentes cujo evento “morte” não ocorreu até ao ponto de corte, ou cujo seguimento se perdeu, foram considerados como dados censurados.

A análise estatística foi realizada com base nos programas *SPSS Statistics 22®* e *MATLAB R2015A®*.

Resultados

a) Análise Descritiva

A amostra é formada por 233 indivíduos (N=233), 131 do sexo masculino (56,2%) e 102 indivíduos do sexo feminino (43,8%), (Tabela 1). Cerca de 26,6 % dos doentes tinham fenótipo bulbar e 66,9% fenótipo medular, (Tabela 1). A idade de diagnóstico foi em média de 62,8 anos (desvio padrão, DP, 12,2), (Tabela 2). A duração média da doença na consulta inicial é 18,65 (DP 21,32) meses, (Tabela 2).

Na avaliação inicial, o valor médio de creatinina plasmática era de 0,78 (DP 0,28) mg/dL, (Tabela 3), sendo a média de 0,85 (DP 0,19) mg/dL para os homens, e de 0,69 (DP 0,21) mg/dL para as mulheres, (Tabela 4). Nos doentes com fenótipo bulbar, o valor médio foi de 0,79 (DP 0,20) mg/dL, e nos doentes com fenótipo medular foi de 0,78 (DP 0,21) mg/dL, (Tabela 4). Apenas 14,6% (N=34) dos doentes tinham valores de creatinina inferiores ao limite inferior do intervalo de referência, (Tabela 5). Neste grupo, a média de redução dos valores de creatinina foi de $19,1 \pm 13,1$ %, em relação ao limite inferior. Cerca 13 indivíduos deste subgrupo (38%) tinham um FVC inferior a 80% do previsto.

Na população total, na primeira avaliação, o valor médio FVC foi de 81,9% (DP 23,4), (Tabela 3). Apenas 42,9% dos doentes tinham um valor de FVC inferior a 80%. O valor de ALSFRS-R global era de 42,9 (DP 6,66) e o de ALSFRS-R *respiratory subscore* de 11,24 (DP 1,35) na avaliação inicial, (Tabela 3). O IMC_{adm} determinado foi, em média, 24,9 (DP 3,7) Kg/m², (Tabela 3).

Não foi possível obter em todos os doentes registos que totalizassem as quatro avaliações subsequentes à admissão, no decurso da doença. Apenas 27,90 % (N=65) e 65,23 % (N=151) dos doentes da amostra, apresentam cumulativamente, quatro avaliações da função respiratória e da capacidade funcional, respetivamente, decorrente da adaptação à ventilação não-invasiva num número apreciável de doente que assim não necessitaram de repetir provas de função respiratória.

Aquando da análise dos dados, apenas 38,6% (N=90) dos doentes permaneciam vivos e a ser seguidos, sendo que os restantes estavam mortos (54,1%, N=126) ou desaparecidos (7,3 %, N=17).

b) Estudo da relação entre as variáveis, na primeira consulta, t₁.

O valor de creatinina na primeira consulta é preditivo do valor inicial de ALSFRS-R ($p=0,014$), (Tabela 6), mas não foi possível estabelecer uma relação independente entre a creatinina e o ALSFRS-R *respiratory* ($p>0,6$) e o FVC ($p>0,1$), (Tabela 6). Por outro lado, a (maior) idade é preditiva do valor inicial de ALSFRS-R ($p<0,001$), ALSFRS-R *respiratory* ($p=0,012$) e FVC ($p=0,002$), (Tabela 6). Quanto maior a duração dos sintomas até ao diagnóstico, menor será o ALSFRS-R *global* ($p=0,018$), (Tabela 6). O início bulbar é preditivo do valor inicial de FVC ($p=0,002$), (Tabela 6). A interação entre o valor de creatinina e o *score* ALSFRS-R não é influenciado pelo sexo. Não foi possível estabelecer uma relação entre as restantes variáveis independentes com o ALSFRS-R, ALSFRS-R *respiratory* e FVC.

c) Estudo da relação entre as variáveis, até uma terceira avaliação, no decurso da doença:

Na análise longitudinal, que compreende uma primeira avaliação na admissão e duas avaliações subsequentes, no decurso da doença, o valor inicial da creatinina foi preditor do declínio do ALSFRS-R ($p<0,001$), (Tabela 7). Contudo, não foi possível estabelecer o valor preditor da creatinina inicial para o declínio do ALSFRS-R *respiratory* ($p>0,09$) e para o FVC ($p>0,5$), (Tabela 7). A idade foi preditora do declínio do ALSFRS-R ($p<0,001$) e do FVC ($p<0,001$), mas sem influência no ALSFRS-R *respiratory* ($p=0,02$, não sobrevive à correção de Bonferroni), (Tabela 7). O início não bulbar foi preditor do declínio do FVC ($p<0,001$) e está associado a um declínio mais lento do ALSFRS-R *respiratory* ($p<0,001$), mas sem impacto no ALSFRS-R ($p=0,7$), (Tabela 7). Não foi possível estabelecer uma relação entre as restantes variáveis independentes com o declínio do ALSFRS-R, ALSFRS-R *respiratory* e do FVC.

d) Estudo da relação entre as variáveis, ao longo do tempo, comparando grupos com recurso a *Median-Split*

Com recurso à técnica de *Median-Split*, foi possível apurar que os indivíduos com valores de creatinina inferiores à mediana ($0,76$ mg/dL), tinham menor valor do ALSFRS-R *global*, relativamente aos doentes com valores de creatinina superiores à mediana. Contudo, o declínio do *score* funcional foi semelhante em ambos os grupos, ($p=0,804$), (Figura 1). De igual forma, o declínio do ALSFRS-R *respiratory* e o FVC foi comparável entre ambos os grupos ($p=0,442$ e $p=0,774$, respetivamente), (Figuras 2 e 3).

e) Análise de sobrevivência

A regressão de risco proporcional de Cox indica-nos que apenas o fenótipo bulbar (*Hazard Ratio* (HR) 1,56; $p=0,029$; intervalo de confiança (IC) 95% [1,05;2,34]) e a idade de diagnóstico (HR 16,41; $p<0,0001$; IC95% [3,8;70,78]) estão associados a um aumento da mortalidade. Nesta análise, as outras variáveis independentes, nomeadamente a creatinina, não se relacionam com a sobrevivência, (Tabela 8).

No estudo da mortalidade, foram incluídos 135 doentes (N=135). Os restantes doentes foram censurados, uma vez que o evento “morte” não ocorreu até ao ponto de corte, ou cujo seguimento se perdeu. Com recurso à técnica de *Median-Split*, a sobrevida não foi diferente entre os subgrupos com valor de creatinina superior vs inferior à mediana (0,76mg/dL), ($p=0,383$). No ponto de corte (60 meses após o diagnóstico), apenas 8% dos doentes com valores de creatinina inferiores à mediana e 10% dos doentes com valores de creatinina superiores à mediana permanecem vivos, (Figura 4). Ao fim de 29 meses e 31 meses após o diagnóstico, apenas metade dos doentes se encontram vivos, nos grupos com valores de creatinina inferior e superior à mediana, respetivamente, (Figura 4).

Discussão

A amostra recolhida apresenta características demográficas representativas do universo de doentes com ELA, tal como descrito na literatura. [1,2,3,4] Nomeadamente, cerca 56,2% dos doentes eram do sexo masculino e 26,6 % tinham fenótipo bulbar. A média de idade no diagnóstico foi de 62,8 anos, com um intervalo temporal médio de 18,65 meses, entre a apresentação dos sintomas e a primeira consulta.

Na admissão, apenas 14,6% dos doentes apresentaram valores de creatinina inferiores ao limite inferior do intervalo de referência. Estes dados são explicados pelo facto de grande parte dos doentes ainda não terem uma marcada atrofia muscular generalizada. Segundo a literatura, a creatinina sérica decai a um ritmo constante, sendo que o declínio está intimamente ligado à atrofia muscular. [30,45,47]. Por outro lado, não podemos excluir nesta população que vários fármacos tenham condicionado um aumento da creatinina sérica, tal como descrito para os anti-inflamatórios não esteróides, corticosteróides, salicilatos, trimetopim, e outros.[66,67]

Nos últimos anos, tem-se estudado uma solução para compensar a variabilidade que pode existir na quantificação da creatinina, nomeadamente, utilizar a razão creatinina / cistatina C como indicador do declínio muscular. Uma vez que a cistatina C (inibidor das cisteinoproteases) é uma proteína de baixo peso molecular produzida por todas as células, cuja concentração depende exclusivamente da taxa de filtração glomerular, a razão atenuaria a influência desta taxa por forma a obtermos um indicador exclusivo da reserva muscular. [68,69]

Através da análise estatística, não foi possível estabelecer uma relação entre o valor creatinina plasmática, aquando da primeira consulta, como preditor da função respiratória (FVC), o nosso objetivo primário, nem com a sobrevida. Contudo, foi possível confirmar ser a creatinina um fator preditivo independente da capacidade e da progressão funcional da doença (ALSFRS-R). O ALSFRS-R contém vários itens que avaliam subjetivamente a ação de vários músculos esqueléticos (como a capacidade de marcha, nos cuidados pessoais ou da mobilidade na cama). Deste modo, atrofia destes músculos, traduz-se qualitativamente numa menor pontuação de avaliação da capacidade funcional e quantitativamente num menor valor de creatinina. [30]

Tal como referido na literatura [1,8,16], objetivou-se que uma maior idade no diagnóstico é preditora do declínio da capacidade funcional (ALSFRS-R) e da função respiratória (FVC), no momento da primeira consulta e em termos de progressão clínica. Concomitante, o fenótipo bulbar, quando comparado com os restantes fenótipos, associa-se a um menor FVC, no momento da primeira consulta. Ao contrário do que era expectável e evidenciado em vários estudos [10,16,20], não foi possível demonstrar a influência do IMC na progressão da doença.

O estudo da sobrevida, com recurso ao modelo de Cox, não conseguiu validar a creatinina como fator preditor independente. Apenas o fenótipo bulbar e a idade de diagnóstico estão associados a uma redução da sobrevida. [1,2,16]

Este estudo apresenta várias limitações: o número de doentes da amostra; a presença de alguns dados incompletos; a limitação a três avaliações longitudinais; a variabilidade de laboratórios onde ocorreu a determinação da creatinina, a inexistência de um registo de fatores que podiam ter sobrevalorizado os valores de creatinina.

O FVC e o ALSFRS-R são preditores de prognóstico validados e universalmente utilizados, todavia apresentam várias limitações. O FVC apresenta uma sensibilidade reduzida quando avalia doentes com um envolvimento respiratório moderado ou quando têm fenótipo bulbar. Os doentes com fraqueza muscular diafragmática podem ter os FVC sobrevalorizados, pela não realização da espirometria na posição supina, e pela ação dos músculos acessórios. [25,27] O ALSFRS-R pode ser muito subjetivo na sua avaliação e não é sensível para pequenas alterações da capacidade funcional. [29] Devido às limitações dos fatores de prognóstico demográficos e clínicos, o desenvolvimento de novos biomarcadores é fundamental para complementar os estudos de sobrevida na ELA [14,35,37]

Os biomarcadores laboratoriais de prognóstico obrigam à validação da sua reprodutibilidade, sensibilidade e especificidade. São promissores, uma vez que podem ser informativos de uma forma fácil, rápida, e sem riscos [18,30] A creatinina plasmática destaca-se por ser um fator preditivo da progressão funcional da doença. Necessitando ainda de mais intensa investigação, de modo a explorar o seu papel preditor da função respiratória numa população mais ampla de doentes. [30]

No futuro, o biomarcador creatinina poderá ser útil a uma gestão mais eficaz dos doentes e igualmente utilizada em ensaios clínicos, como biomarcador de fácil acesso e que permita comparar, entre grupos, a existência de uma resposta terapêutica. [18,30]

Agradecimentos

Em primeiro lugar, quero agradecer ao Prof. Doutor Mamede De Carvalho por me orientar e por me ter dado a oportunidade em realizar o Trabalho Final do MIM no âmbito da ELA, para além de me ter ensinado como elaborar e redigir um artigo.

Um especial agradecimento à Dr.^a Ana Catarina Pronto-Laborinho, por todo o apoio que me deu ao longo da elaboração da Tese, na pesquisa e na recolha de dados. Estou igualmente grato à Doutora Marta Gromicho Silva, sobretudo pelo processo da recolha de dados. Um especial agradecimento a Vasco Conceição, quer pela imprescindível e basilar análise estatística, quer pela forma como me ensinou e me abriu a porta ao mundo estatístico.

Quero agradecer profundamente a António Francisco Morgadinho por tudo o que me proporcionou e por ser quem sou, para além de me ter facultado as oportunidades que me permitiram estudar Medicina. Agradeço igualmente a Manuela Ferreira por todo o apoio e à Fátima Outor por me ter ajudado a sistematizar o meu raciocínio, no início da minha vida escolar.

Por último, agradeço a todos os meus professores e família que me acompanharam ao longo do meu percurso académico.

Bibliografia

1. Zarei S, Carr K, Reiley L, Diaz K, Guerra O, Altamirano P, et al. (2015) A comprehensive review of amyotrophic lateral sclerosis. *Surg Neurol Int.*
2. Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC, Turner MR, Eisen A, Hardiman O, et al. (2011) Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet (London, England)* 377(9769):942–55.
3. Pk J, Sc RB, Ch MBBBAO. (2018) The Environmental Epidemiology of Amyotrophic Lateral Sclerosis in Europe.
4. Marin B, Boumédiène F, Logroscino G, Couratier P, Babron M-C, Leutenegger AL, et al. (2016) Variation in worldwide incidence of amyotrophic lateral sclerosis: a meta-analysis. *Int J Epidemiol* 46(1):dyw061.
5. Dia internacional da ELA [Internet]. [citado 17 de Março de 2019]. Disponível em: https://www.apifarma.pt/publicacoes/factsheetsAD/Documents/Ficha_Apifarma_Esclerose_Lateral_AmiotróficaFinal.pdf
6. Brown RH, Al-Chalabi (2017) A. Amyotrophic Lateral Sclerosis. *N Engl J Med* 377(2):162–72.
7. Hardiman O, Al-Chalabi A, Chio A, Corr EM, Logroscino G, Robberecht W, et al. (2017) Amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Dis Prim*
8. Wang MD, Little J, Gomes J, Cashman NR, Krewski D. (2017) Identification of risk factors associated with onset and progression of amyotrophic lateral sclerosis using systematic review and meta-analysis. *Neurotoxicology*.
9. Cristina Da Costa S. (2012) Compreensão e a Reabilitação da Fraqueza e da Fadiga Respiratórias na Esclerose Lateral Amiotrófica. Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa;
10. Floeter MK, Gendron TF. (2018) Biomarkers for Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia Associated With Hexanucleotide Expansion Mutations in C9orf72. *Front Neurol* 9.

11. Andersen PM, Abrahams S, Borasio GD, De Carvalho M, Chio A, Van Damme P, et al. (2012) EFNS guidelines on the Clinical Management of Amyotrophic Lateral Sclerosis (MALS)-revised report of an EFNS task force The EFNS Task Force on Diagnosis and Management of Amyotrophic Lateral Sclerosis.
12. Oskarsson B, Gendron TF, Staff NP. (2018) Amyotrophic Lateral Sclerosis: An Update for 2018. *Mayo Clin Proc* 93(11):1617–28.
13. Paulukonis ST, Roberts EM, Valle JP, Collins NN, English PB, Kaye WE. (2015) Survival and Cause of Death among a Cohort of Confirmed Amyotrophic Lateral Sclerosis Cases. *10(7):e0131965*.
14. Knibb JA, Keren N, Kulka A, Leigh PN, Martin S, Shaw CE, et al. (2016) A clinical tool for predicting survival in ALS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*.
15. Yates E, Rafiq MK. (2016) Prognostic factors for survival in patients with amyotrophic lateral sclerosis: analysis of a multi-centre clinical trial. *J Clin Neurosci*.
16. Chio A, Logroscino G, Hardiman O, Swingler R, Mitchell D, Beghi E, et al. (2009) Prognostic factors in ALS: A critical review. *NIH Public Access*
17. Czaplinski A, Yen AA, Appel SH. (2006) Amyotrophic lateral sclerosis: Early predictors of prolonged survival. *J Neurol*.
18. Taga A, Maragakis NJ. (2018) Current and emerging ALS biomarkers: utility and potential in clinical trials. *Expert Review of Neurotherapeutics*.
19. Paganoni S, Deng J, Jaffa M, Cudkowicz ME, Wills AM. (2011) Body mass index, not dyslipidemia, is an independent predictor of survival in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle and Nerve*.
20. Moglia cristina, calvo andrea, Grassano M, canosa antonio, Manera U, Bombaci alessandro, et al. (2019) Early weight loss in amyotrophic lateral sclerosis: outcome relevance and clinical correlates in a population-based cohort. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 0:1–8.
21. Traxinger K, Kelly C, Johnson BA, Lyles RH, Glass JD. (2013) *Neurology* ® Clinical

Practice Prognosis and epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis Analysis of a clinic population, 1997-2011. American Academy of Neurology

22. Marin B, Arcuti S, Jesus P, Logroscino G, Copetti M, Fontana A, et al. (2016) Population-based evidence that survival in amyotrophic lateral sclerosis is related to weight loss at diagnosis. *Neurodegener Dis.*
23. Braun AT, Caballero-Eraso C, Lechtzin N. (2018) Amyotrophic Lateral Sclerosis and the Respiratory System. *Clinics in Chest Medicine.*
24. Rutkove SB. (2015) Clinical Measures of Disease Progression in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurotherapeutics* 12(2):384–93.
25. Leonardis L, Dolenc Grošelj L, Vidmar G. (2012) Factors related to respiration influencing survival and respiratory function in patients with amyotrophic lateral sclerosis: A retrospective study. *Eur J Neurol.*
26. Czaplinski A, Yen AA, Appel SH. (2006) Forced vital capacity (FVC) as an indicator of survival and disease progression in an ALS clinic population. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.*
27. Raji H, Mousavi S-AJ, Zamani B, Shahmiri SS, Rohani M, Shahidi GA, et al. (2014) Pulmonary function tests in patients with amyotrophic lateral sclerosis and the association between these tests and survival. Vol. 13, *Iran J Neurol.* 2014.
28. Zamani B, Shahmiri SS, Rohani MM, Shahidi GA. (2014) Pulmonary function tests in patients with amyotrophic lateral sclerosis and the association between these tests and survival. Article in *Iranian Journal of Neurology.*
29. Rooney J, Burke T, Vajda A, Heverin M, Hardiman (2017). What does the ALSFRS-R really measure? A longitudinal and survival analysis of functional dimension subscores in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.*
30. Van Eijk RPA, Eijkemans MJC, Ferguson TA, Nikolakopoulos S, Veldink JH, van den Berg LH. (2018) Monitoring disease progression with plasma creatinine in amyotrophic lateral sclerosis clinical trials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 89(2):156–61.

31. Onesti E, Gori MC, Ceccanti M, Tartaglia G, Petrucci A, Frasca V, et al. (2016) Cronicon EC Neurology The Compound Muscle Action Potential as Neurophysiological Marker for Amyotrophic Lateral Sclerosis Vol. 3, EC Neurology.
32. Vucic S, Rutkove SB. (2018) Neurophysiological biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis. *Curr Opin Neurol*.
33. Tokuda T. (2009) Biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis. *Brain and Nerve. Lancet Neurol* 8: 94–10
34. Miltenberger-Miltenyi G, Conceição VA, Gromicho M, Pronto-Laborinho AC, Pinto S, De Carvalho M. (2018) C9orf72 expansion is associated with accelerated decline of respiratory function and decreased survival in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*.
35. Schuster C, Hardiman O, Bede P.(2017) Survival prediction in Amyotrophic lateral sclerosis based on MRI measures and clinical characteristics. *BMC Neurol*.
36. Mandrioli J, Rosi E, Fini N, Fasano A, Raggi S, Fantuzzi AL, et al. (2017) Changes in routine laboratory tests and survival in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Sci*.
37. Vu LT, Bowser R. (2016) Fluid-Based Biomarkers for Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurotherapeutics* 14:119– 134
38. Chen X, Guo X, Huang R, Zheng Z, Chen Y, Shang HF. (2014) An exploratory study of serum creatinine levels in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Sci*.
39. Lu CH, Macdonald-Wallis C, Gray E, Pearce N, Petzold A, Norgren N, et al. (2015) Neurofilament light chain: A prognostic biomarker in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*.
40. Nagel G, Peter RS, Rosenbohm A, Koenig W, Dupuis L, Rothenbacher Di, et al.(2017) Adipokines, C-reactive protein and Amyotrophic Lateral Sclerosis - Results from a population- based ALS registry in Germany. *Sci Rep*.
41. Lunetta C, Lizio A, Maestri E, Sansone VA, Mora G, Miller RG, et al.(2017) Serum C-Reactive Protein as a Prognostic Biomarker in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *JAMA*

42. Pronto-Laborinho AC, Gromicho M, Pereira M, Pinto S, Barros MD, Swash M, de Carvalho M. (2018) Plasma level of club-cell (CC-16) predicts outcome in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurologica Scandinavica*. 137(2):233-7.
43. Pronto-Laborinho A, Pinto S, Gromicho M, Pereira M, Swash M, de Carvalho M. Interleukin-6 and amyotrophic lateral sclerosis. (2019) *Journal of the neurological sciences*. 15;398:50-3.
44. Oh S Il, Baek S, Park JS, Piao L, Oh KW, Kim SH. (2015) Prognostic role of serum levels of uric acid in amyotrophic lateral sclerosis. *J Clin Neurol*.
45. Ikeda K, Hirayama T, Takazawa T, Kawabe K, Iwasaki Y. (2012) Relationships between Disease Progression and Serum Levels of Lipid, Urate, Creatinine and Ferritin in Japanese Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Cross-Sectional Study. *Intern Med* 51: 1501-1508
46. Zhang F, Zhang Q, Ke Y, Hao J, Lu L, Lu N, et al. (2018) Serum uric acid levels in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a meta-analysis. *Sci Rep*.
47. Chiò A, Calvo A, Bovio G, Canosa A, Bertuzzo D, Galmozzi F, et al. (2014) Amyotrophic lateral sclerosis outcome measures and the role of albumin and creatinine: A population-based study. *JAMA Neurol*.
48. Mariosa D, Hammar N, Malmström H, Ingre C, Jungner I, Ye W, et al. (2017) Blood biomarkers of carbohydrate, lipid, and apolipoprotein metabolisms and risk of amyotrophic lateral sclerosis: A more than 20-year follow-up of the Swedish AMORIS cohort. *Ann Neurol*.
49. Sun Q, Yang F, Wang H, Li Y, Li S, Ren Y, et al. (2019) Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration Elevated serum ferritin level as a predictor of reduced survival in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis in China: a retrospective study Elevated serum ferritin level as a predictor of reduced survival in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis in China: a retrospective study. *Taylor & Francis* 0:1-

50. Hu X, Yang Y, Su J, Yao C, Yao C. (2016) Meta-analysis of the relationship between amyotrophic lateral sclerosis and susceptibility to serum ferritin level elevation Systematic Review. *Neurosciences* 21(2):120–5.
51. Sinaki M, Mutder DW.(1986) Amyotrophic Lateral Sclerosis: Relationship Between Serum Creatine Kinase Level and Patient Survival.*Arch Phys Med Rehabil* Vol67
52. Tai H, Cui L, Guan Y, Liu M, Li X, Shen D, et al.(2017) Correlation of creatine kinase levels with clinical features and survival in amyotrophic lateral sclerosis. *Front Neurol*.
53. Rafiq MK, Lee E, Bradburn M, McDermott CJ, Shaw PJ.(2016) Creatine kinase enzyme level correlates positively with serum creatinine and lean body mass, and is a prognostic factor for survival in amyotrophic lateral sclerosis. *Eur J Neurol*.
54. Rafiq M, Lee E, Bradburn M, McDermott C, Shaw P. (2013) Elevated Creatine Kinase suggests better prognosis in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*;84:e2
55. Wyss M, Kaddurah-Daouk R, Hoffmann- F, Roche L.(200) Creatine and Creatinine Metabolism. *Physiologic reviews* Vol 80
56. Creatinine: Reference Range, Interpretation, Collection and Panels [Internet]. [citado 13 de Março de 2019]. Disponível em: <https://emedicine.medscape.com/article/2054342-overview#a4>
57. Patel SS, Molnar MZ, Tayek JA, Ix JH, Noori N, Benner D, et al. (2013) Serum creatinine as a marker of muscle mass in chronic kidney disease: results of a cross-sectional study and review of literature. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* . 4:19–29.
58. Creatinine – colorimetric, spectrum [Internet]. [citado 1 de Março de 2019]. Disponível em: www.spectrum-diagnostics.com
59. Preeti P, Suresh JN. (2017) Estimation of Serum Creatinine by Routine Jaffé’s Method and by Dry Chemistry in Icteric and Hemolytic Serum Samples. *Int J Med Res Heal Sci* 6(3):68–75.
60. Kasper, D. L., Fauci, A. S., Hauser, S. L., Longo, D. L, Jameson, J. L., & Loscalzo J.

Harrison's principles of internal medicine.19th ed. New York: McGraw Hill Education.; 2015;2754-2768

61. Patin F, Corcia P, Madji Hounoum B, Veyrat-Durebex C, Respaud E, Piver E, et al. (2015) Biological follow-up in amyotrophic lateral sclerosis: Decrease in creatinine levels and increase in ferritin levels predict poor prognosis. *Eur J Neurol*.
62. Küffner R, Zach N, Norel R, Hawe J, Schoenfeld D, Wang L, et al. (2015) Crowdsourced analysis of clinical trial data to predict amyotrophic lateral sclerosis progression. *Nat Biotechnol*.
63. Vucic S. (2018) Plasma creatinine: A potential prognostic biomarker in amyotrophic lateral sclerosis? *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*.
64. Wei Q-Q, Chen Y, Chen X, Cao B, Ou R, Zhang L, et al. (2018) Prognostic Nomogram Associated with Longer Survival in Amyotrophic Lateral Sclerosis Patients. *Aging na disease* Volume 9, Number 6; 965-975.
65. Ren Y, Zhu W, Cui F, Yang F, Huang X. (2014) Evaluation of serum creatinine level in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Zhonghua nei ke za zhi* 53(4):283
66. Samra M, Abcar AC. (2012) False estimates of elevated creatinine. *Perm J Spring*;16(2):51-52
67. Andreev E, Koopman M, Arisz L.(1999) A rise in plasma creatinine that is not a sign of renal failure: which drugs can be responsible? *J Intern Me* ;246(3):247–52.
68. Tetsuka S, Morita M, Ikeguchi K, Nakano I. (2013) Creatinine/cystatin C ratio as a surrogate marker of residual muscle mass in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Clin Neurosci*.
69. Peixoto L, Aguiar P, de Bragança R, Martins JR, Acabado AJ, Ducla-Sores JL.(2015) Cystatin C: A Promising Marker of Renal Function in Patients with Systemic Lupus Erythematosus? *Acta Med Port* 28(3):333–41.

Quadros E Figuras

Amostra, N=233		Número de Doentes	
		n	%
Sexo	Masculino	131	56,22
	Feminino	102	43,77
Fenótipo	Bulbar	62	26,61
	Medular	156	66,95
	Outros fenótipos	15	6,44
Presença de demência fronto-temporal		19	18,65

Tabela 1: Características demográficas dos doentes da amostra, relativamente ao sexo, fenótipo e presença de demência fronto-temporal.

Amostra, N=233	Média	Desvio Padrão	Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo
Idade de Diagnóstico (Anos)	62,82	12,23	63,93	15,40	89,60
Duração da doença na consulta inicial (Meses)	18,65	21,33	13,07	0,13	180,80

Tabela 2: Análise descritiva das variáveis: idade de diagnóstico (anos) e duração da doença na consulta inicial (meses).

Avaliações na primeira consulta, t₁ (N=233)	Média	Desvio padrão	Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo
Creatinina plasmática (mg/dL)	0,78	0,28	0,76	0,15	1,7
IMC (Kg/m2)	24,85	3,67	24,52	15,06	38,82
1.º %FVC (%)	81,85	23,41	86	16	139
1.ª ALSFRS-R global score (0-48)	42,90	6,66	45	15	51
1.º ALSFR-R <i>respiratory subscore</i> (0-12)	11,24	1,35	12	5	12

Tabela 3: Análise descritiva das várias avaliações na primeira consulta, t₁. Creatinina plasmática (mg/dL); Índice de massa corporal (IMC, Kg/m2); Percentagem da capacidade vital forçada obtida em relação ao valor predito (%FVC); Pontuação da Escala Funcional da ELA Revista (ALSFRS-R global score) e subpontuação respiratória (ALSFR-R *respiratory subscore*).

Subgrupos da amostra	Creatinina plasmática (mg/dL) , na primeira consulta		
	Média	Desvio Padrão	Mediana
Sexo Masculino (n=131)	0,85	0,19	0,81
Sexo Feminino (n=102)	0,69	0,21	0,68
Fenótipo Bulbar (n=62)	0,79	0,20	0,80
Fenótipo Medular (n=62)	0,78	0,22	0,76

Tabela 4: Análise descritiva dos valores de creatinina plasmática (mg/dL) , na primeira consulta (t₁), em subgrupos específicos da amostra.

Avaliações, t₁ (n=34)	Média	Desvio Padrão	Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo
Creatinina (mg/dL)	0,55	0,12	0,60	0,15	0,78
IMC (Kg/m²)	24,71	2,98	24,40	20,11	30,87
1.º %FVC	85,05	21	90,31	28,00	127,30
1.ª ALSFRS-R <i>global score</i>	44	5,97	45,50	22,00	51,00
1.º ALSFR-R <i>respiratory subscore</i>	11,24	1,46	12,00	6,00	12,00

Tabela 5: Análise descritiva das várias avaliações, aquando da primeira consulta (t₁), de doentes com valores de creatinina inferiores ao limite inferior determinado pelo laboratório. Creatinina plasmática (mg/dL); Índice de massa corporal (IMC, Kg/m²); Percentagem da capacidade vital forçada obtida em relação ao valor predito (%FVC); pontuação da Escala Funcional ELA Revista (ALSFRS-R *global score*) e subpontuação respiratória (ALSFR-R *respiratory subscore*).

		Variáveis Independentes							
		Idade de Diagnóstico	Duração dos Sintomas Até Ao Diagnóstico	Fenótipo Bulbar	Fenótipo Não Bulbar	IMC	Sexo	FTD	Cr
Variáveis Dependentes	ALSFRS-R global n=182	-0,322**	-0,181*	0,011	0,036	-0,111	0,001	0,019	0,186*
	ALSFR-R respiratory n=182	-0,345*	-0,129	-0,009	-0,060	-0,026	0,050	0,029	0,017
	%FVC n=152	-0,348*	-0,129	-0,095*	-0,060	-0,026	0,049	0,029	0,167

Tabela 6: A influência das variáveis independentes sobre as variáveis dependentes, na primeira consulta, t_1 , expresso sob a forma de um coeficiente de regressão. Coeficientes positivos (negativos, respetivamente) indicam que valores elevados das variáveis independentes, estão associados a valores elevados (diminuídos, respetivamente) das variáveis dependentes. (n) representa o número de doentes analisados em cada regressão. Os * indicam o nível de significância dos coeficientes, com *, **, representarem *p-values* inferiores a 0,05 e 0,001, respetivamente. Os coeficientes que sobrevivem à correção de Bonferroni estão a *bold*. Creatinina (Cr); Índice de massa corporal (IMC); Demência fronto-temporal (FTD); Percentagem da capacidade vital forçada obtida em relação ao valor predito (%FVC); Pontuação da Escala Funcional ELA Revista (ALSFRS-R global *score*) e subpontuação respiratória (ALSFR-R *respiratory subscore*).

		Variáveis Independentes								
		Idade de Diagnóstico	Duração dos Sintomas Até Ao Diagnóstico	Fenótipo Bulbar	Fenótipo Não Bulbar	IMC	Sexo	FTD	Cr	Tempo
Variáveis Dependentes	ALSFRS-R global n=154	-0,237**	0,024	-0,021	-0,001	-0,67	-0,008	0,040	0,193*	-0,536
	ALSFRS-R respiratory n=154	-0,125*	0,019	-0,036*	0,126**	0,017	0,026	0,034	0,093	-0,030
	%FVC n=56	-0,034**	0,819	-0,145	-0,212**	0,034	-0,233	-0,005	0,020	-0,011

Tabela 7: Avaliação longitudinal da influência das variáveis independentes sobre as variáveis dependentes, até uma terceira avaliação, no decurso da doença, expresso sob a forma de um coeficiente de regressão. Coeficientes positivos (negativos, respetivamente) indicam que valores elevados das variáveis independentes, estão associados a valores elevados (diminuídos, respetivamente) das variáveis dependentes. (n) representa o número de doentes analisados em cada regressão. Os * indicam o nível de significância dos coeficientes, com *, **, representarem *p-values* inferiores a 0,05 e 0,001, respetivamente. Os coeficientes que sobrevivem à correção de Bonferroni estão a **bold**. Creatinina (Cr); Índice de massa corporal (IMC); Demência fronto-temporal (FTD); Percentagem da capacidade vital forçada obtida em relação ao valor predito (%FVC); Pontuação da Escala Funcional ELA Revista (ALSFRS-R *global score*) e subpontuação respiratória (ALSFRS-R *respiratory subscore*).

		B	Wald	p-value	HR (ExpB)	IC 95,0%	
						Min.	Máx.
Covariáveis	Idade de Diagnóstico	2,80	14,07	< 0,0001	16,406	3,80	70,78
	Duração sintomas até ao diagnóstico	-2,10	2,69	0,101	0,122	0,01	1,51
	Sexo	-0,09	0,16	0,690	0,916	0,60	1,41
	FTD	-0,23	0,47	0,492	0,792	0,41	1,54
	Fenótipo Bulbar	0,45	4,785	0,029	1,564	1,05	2,34
	Fenótipo não bulbar	-0,45	1,293	0,255	0,636	0,29	1,39
	IMC _{adm}	-1,40	2,247	0,134	0,246	0,04	1,54
	Creatinina	-0,80	0,91	0,339	0,448	0,09	2,32

Tabela 8 : Análise da Mortalidade dos doentes da amostra, através da regressão de Cox, tendo em conta influência das várias covariáveis (preditores de sobrevida). Coeficientes de regressão (B) positivos indicam que valores elevados das respetivas variáveis, estão associados a razões de risco (*Hazard Ratio*, HR) elevados. Preditores de sobrevida com $HR > 1$ estão associados a um pior prognóstico. Nível de significância, $\alpha = 0,05$. Apenas o fenótipo bulbar e a idade de diagnóstico estão associados a uma redução da sobrevida. Índice de massa corporal na admissão (IMC adm); Demência fronto-temporal (FTD). *Hazard Ratio* (HR); Intervalo de confiança (IC).

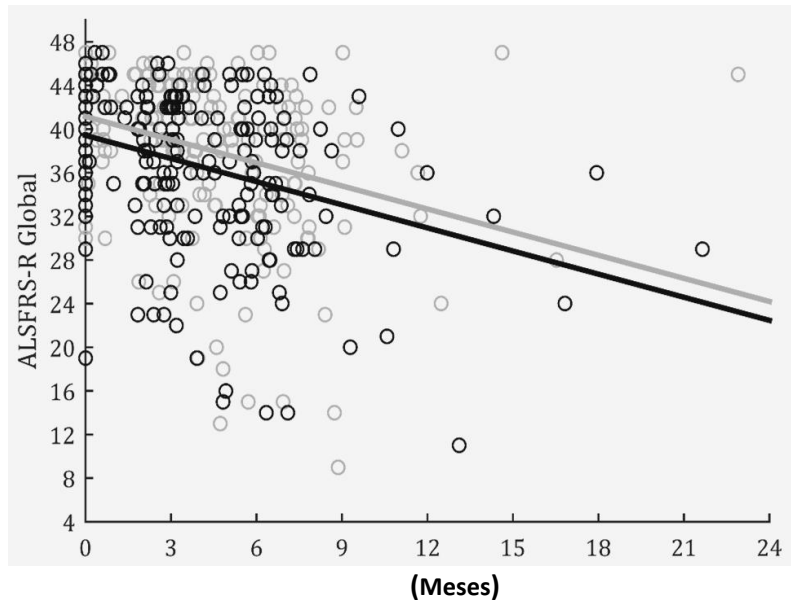


Figura 1: Evolução do ALSFRS-R global ao longo do tempo, comparando grupos de doentes, pela mediana (0,76g/dL). Linha cinzenta: grupo de doentes com valores de creatinina na primeira consulta, superiores à mediana. Linha preta: grupo de doentes com valores de creatinina na primeira consulta, inferiores à mediana. Os doentes com valores de creatinina inferiores à mediana têm menor valor do ALSFRS-R global, relativamente aos doentes com valores de creatinina superiores à mediana. O declínio do *score* funcional é semelhante em ambos os grupos, ($p=0,804$). N=154. Escala Funcional ELA Revista (ALSFRS-R global).

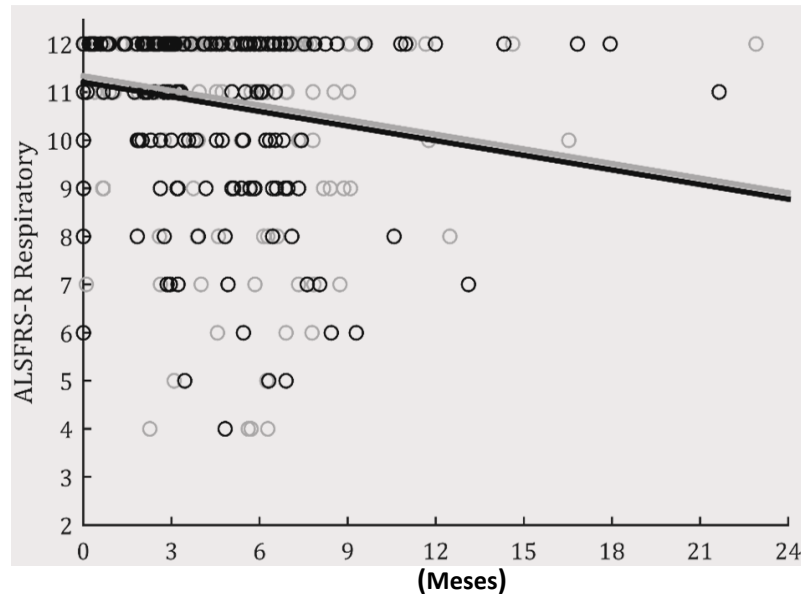


Figura 2: Evolução do ALSFRS-R *respiratory* ao longo do tempo, comparando grupos de doentes, pela mediana (0,76g/dL). Linha cinzenta: grupo de doentes com valores de creatinina na primeira consulta, superiores à mediana. Linha preta: grupo de doentes com valores de creatinina na primeira consulta, inferiores à mediana. Os doentes com valores de creatinina inferiores à mediana têm valores comparáveis do ALSFRS-R *respiratory*, relativamente aos doentes com valores de creatinina superiores à mediana. O declínio do *score* funcional é semelhante em ambos os grupos, ($p=0,424$). N=154. Escala Funcional ELA Revista, subpontuação respiratória (ALSFR-R *respiratory*).

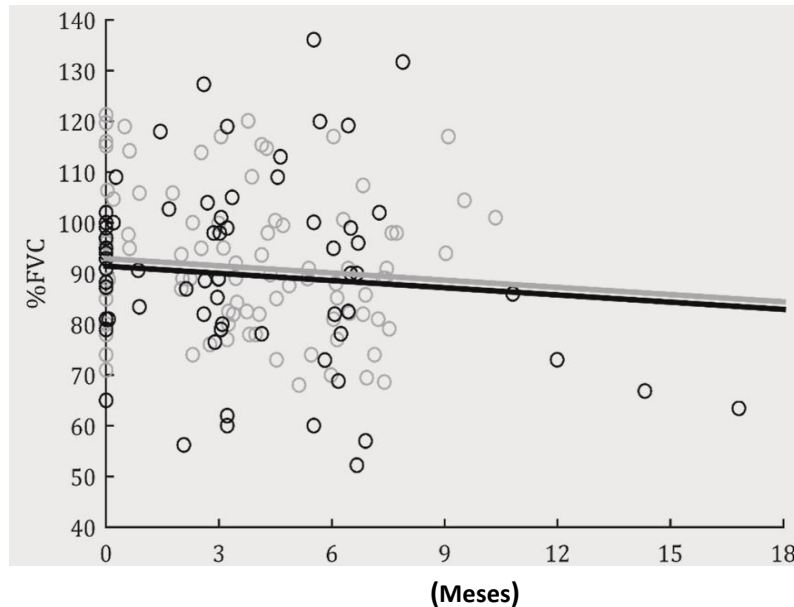


Figura 3: Evolução do %FVC ao longo do tempo, comparando grupos de doentes pela mediana (0,76mg/dL). Linha cinzenta: grupo de doentes com valores de creatinina na primeira consulta, superiores à mediana. Linha preta: grupo de doentes com valores de creatinina na primeira consulta, inferiores à mediana. Os doentes com valores de creatinina inferiores à mediana têm valores comparáveis do %FVC, relativamente aos doentes com valores de creatinina superiores à mediana. O declínio da função respiratória é semelhante em ambos os grupos ($p=0,774$). $N=154$. Percentagem da capacidade vital forçada obtida em relação ao valor predito (%FVC).

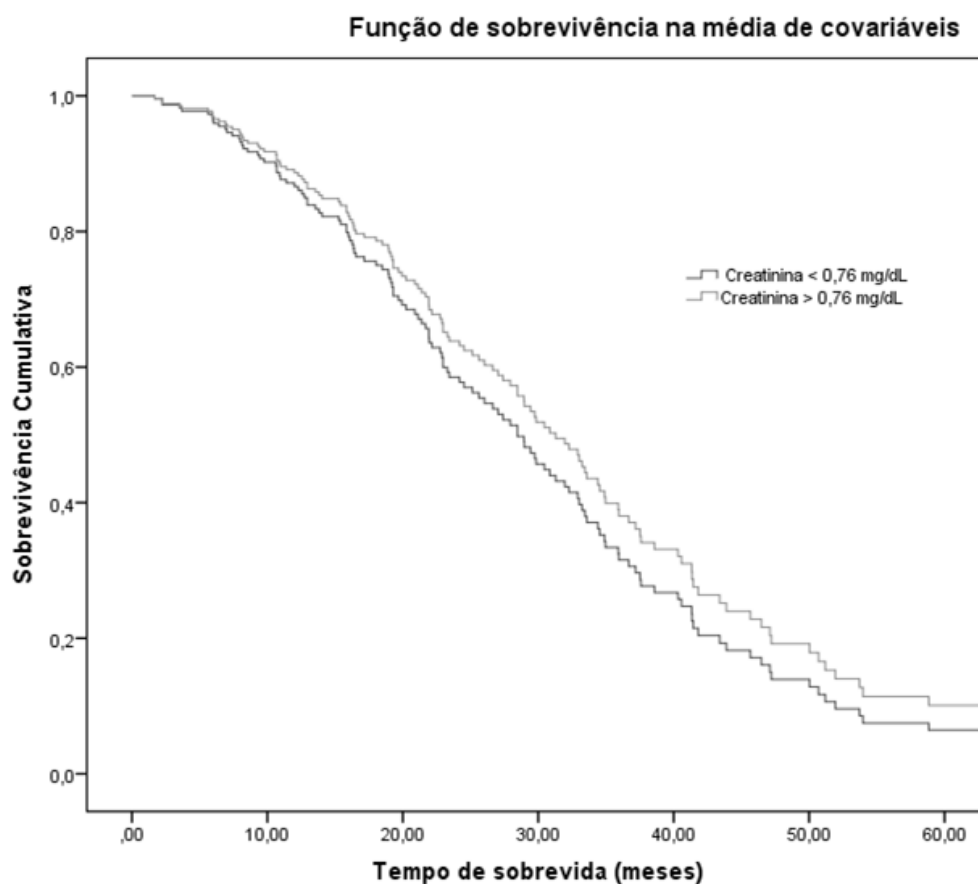


Figura 4: Curva de sobrevida obtida pela regressão Cox, com base na média das covariáveis (preditores de sobrevida), comparando grupos de doentes com valores de creatinina na primeira consulta, superiores e inferiores à mediana (0,76mg/dL), ($p=0,383$). O ponto de corte de 60 meses após o diagnóstico foi estabelecido para o estudo da mortalidade. Os doentes cujo evento “morte” não ocorreu até ao ponto de corte, ou cujo seguimento se perdeu, foram considerados como dados censurados. Foram incluídos 135 doentes ($N=135$), sendo que os restantes foram considerados como dados censurados. No ponto de corte (60 meses após o diagnóstico), apenas 8% dos doentes com valores de creatinina inferiores à mediana e 10% dos doentes com valores de creatinina superiores à mediana permanecem vivos. Ao fim de 29 meses e 31 meses após o diagnóstico, apenas metade dos doentes se encontram vivos, nos grupos com valores de creatinina inferior e superior à mediana, respetivamente.